

IONTOPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE WIRKUNGEN VON GLYKOKOLL,
 γ -AMINOBUTTERSÄURE, STRYCHNIN
UND PICROTOXIN IM NUCLEUS NERVI
HYPOGLOSSI

Udo Sonnhof

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551924_0066

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. K. Kramer, Prof. K. Thureau

IONTOPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNGEN VON
GLYKOKOLL, γ -AMINOBUTTERSÄURE, STRYCHNIN UND PICROTOXIN
IM NUCLEUS NERVI HYPOGLOSSI

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Udo Sonnhof

aus

München

• 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. ten Bruggencate

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Kramer

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9.4.1974



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Zusammenfassung	4
I. <u>Einleitung</u>	6
II. <u>Methodik</u>	11
1. Allgemeines und Narkose	7
2. Präparation	11
3. Elektroden	12
a) Herstellung von Ableit- und Drogenelektroden	13
b) Füllungsverfahren, Schleifen und Verkleben	18
4. Iontophoresegerät Aufbau und Betrieb	18
5. Registriereinrichtung a) Impedanzwandler	19
b) Oszillographen und Verstärkereinschübe	20
c) Kompensationsschreiber und Kamera	20
6. Intertechnique DIDAC 800	21
7. Membranwiderstandsmessung	22
III. <u>Ergebnisse</u>	23
A. Extra- und intrazelluläre Ableitungen mit Einzelelektroden	23
B. Untersuchungen mit Iontophoresetechnik	24
1. Qualitative Untersuchungen von Aminosäuren	24
2. Veränderungen von Membranwider- stand und Membranpotential während Glykokolliontophorese ..	27

3. Quantitativer Vergleich der	
Wirkung von Glykokoll und GABA	30
4. Wirkungen von Aminosäureblockern	34
a) Strychnin	34
b) Picrotoxin	34
IV <u>Diskussion</u>	41
Literaturverzeichnis	48
Sachwortverzeichnis	54
Lebenslauf	56

Zusammenfassung

In den Versuchen wurden die Wirkungen von neutralen ω -Aminosäuren auf Membranprozesse von Zellen des N.nervi hypoglossi und die Beeinflußbarkeit dieser Wirkungen durch krampferzeugende Alkaloide untersucht.

Die Wirkungen von zwei Aminosäuren, nämlich GABA und Glykokoll, die möglicherweise als Überträgerstoffe der postsynaptischen Inhibition im ZNS des Säugers in Frage kommen, standen im Vordergrund der Untersuchungen. Orientierende Messungen wurden außerdem noch mit β -Alanin und Aminovaleriansäure durchgeführt, die jedoch in den Zellen des Zungenmuskelkerns geringere Wirkungen entfalteten als Glykokoll und GABA.

Die Experimente wurden an narkotisierten Katzen und Kaninchen durchgeführt. Zur intra- und extrazellulären Registrierung reizinduzierter Erregungsmuster der Zellen wurden elektrolytgefüllte Mikroglaskapillaren verwendet. Eine speziell entwickelte Iontophoreseelektrode ermöglichte die Applikation der Aminosäuren in die unmittelbare Umgebung der Nervenzellen, wobei deren Wirkung auf Membranpotential, postsynaptische Potentiale, Aktionspotentiale, Membranleitfähigkeit und fokale Potentiale untersucht werden konnte.

Der Beweis der postsynaptischen Hemmwirkung der Aminosäuren wurde durch intrazelluläre Messungen erbracht und an Beispielen der Wirkungsweise von Glykokoll und AVA dargestellt. Unter Aminosäuregabe wird das antidrome Aktionspotential blockiert, postsynaptische Signale werden verkleinert und die Membranleitfähigkeit nimmt zu, wobei das Membranruhepotential in hyperpolarisierender Richtung verschoben wird. Da die intrazellulären Messungen meist von kurzer Dauer waren, wurde die Quantifizierung der GABA- und Glykokollwirkung an der Verkleinerung der Amplitude des antidromen fokalen Potentials während der Aminosäurewirkung vorgenommen. Glykokoll zeigte die stärkste

Wirkung aller untersuchten Aminosäuren. In 71 % der verwandten Elektroden war Glykokoll wirksamer als GABA, in 12 % waren die Wirkungen etwa gleich und in 16 % war GABA wirksamer als Glykokoll.

In allen untersuchten Fällen war es möglich, die Wirkung von Glykokoll durch intravenöse Gabe von Strychnin zu reduzieren und bei iontophoretischer Applikation sogar völlig aufzuheben. Die Strychninwirkung war reversibel und zeigte keinerlei Einflüsse auf die GABA-Hemmung.

Iontophoretische Applikation von Picrotoxin führte bei niedrigen Stromstärken zu einer selektiven und vollständigen Unterdrückung der GABA-Wirkung. Bei höheren Stromstärken blockierte Picrotoxin in geringem Ausmaß auch die Glykokollwirkung. Die Effekte von Picrotoxin waren immer reversibel.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß sowohl Glykokoll wie GABA an der postsynaptischen Membran Effekte erzeugen, die der Wirkung natürlicher Inhibition entsprechen.

Glykokollwirkungen werden selektiv durch Strychnin blockiert, GABA-Effekte verhältnismäßig selektiv durch Picrotoxin. Weitere Versuche müssen klären, ob in Verbindung mit Hypoglossusmotoneuronen Synapsen existieren, deren Terminalen Glykokoll bzw. GABA freisetzen.

I. Einleitung

Erregung und Hemmung sind im Zentralnervensystem (ZNS) gleich wichtige, häufig parallel ablaufende Vorgänge. An der einzelnen Nervenzelle sind sie gekennzeichnet durch das Auftreten von depolarisierenden, exzitatorischen bzw. hyperpolarisierenden, inhibitorischen postsynaptischen Potentialen (EPSP's bzw. IPSP's). Soweit bekannt sollen postsynaptische Hemmungsprozesse im ZNS des Warmblüters darauf beruhen, daß präsynaptisch freigesetzte Überträgerstoffe die Permeabilität der postsynaptischen Membran für Kalium- und Chloridionen erhöhen (vgl. HUBBARD et al. 1969, ECCLES 1964). Wie eine Arbeit von LUX (1971) zeigt, kann eine Permeabilitätsänderung für Chloridionen als Mechanismus der postsynaptischen Hemmung auch allein in Frage kommen. Während der Wirkung des fraglichen Überträgerstoffes an der Membran, sollte diese Membran einen Potentialwert anstreben, der in erster Linie durch die Verteilung derjenigen Ionen beiderseits der Membran, die zu dieser Zeit frei diffundieren können, gegeben ist: das elektrochemische Gleichgewichtspotential. Da das Ruhemembranpotential in der Regel niedriger ist als das Gleichgewichtspotential der Nervenzelle für Kalium und wahrscheinlich auch als das für

Chlorid (HUBBARD et al. 1969, LUX 1971), führt die Wirkung hemmender Überträgerstoffe zu einer Erhöhung des Membranpotentials, zu einer Hyperpolarisation (ECCLES 1964). Gleichzeitig besteht in dieser Phase wegen der erhöhten Membranleitfähigkeit für die genannten Ionen ein verringerter elektrischer Widerstand, was einer Erregung entgegen, also hemmend wirkt. Will man zeigen, daß ein zu untersuchender präsynaptischer Überträgerstoff auf die Membran der Zelle die gleichen Wirkungen hat wie die natürliche Inhibition, so sind diese beiden Kriterien von besonderer Bedeutung: nämlich Hyperpolarisation der Zellmembran und Erhöhung der Membranleitfähigkeit. Um dies nachzuweisen, muß man intrazellulär registrieren.

Hemmwirkungen mikroelektrophoretisch applizierter Stoffe kann man allerdings auch mit extrazellulären Registrierungen dokumentieren, z.B. an einer Verminderung spontaner oder reizinduzierter Zellentladungen, oder auch an der Verkleinerung der Amplitude des fokalen Potentials einer Neuronengruppe oder einer einzelnen Zelle. Mit derartigen Techniken konnte gezeigt werden, daß Monoaminokarboxylsäuren mit endständiger Aminogruppe inhibitorische Wirkungen entfalten (CURTIS, PHILLIS, WATKINS 1959). Doch wurden diese Hemmwirkungen von der Gruppe um CURTIS als unspezifisch aufgefaßt, da Versuche fehlschlagen, bei intrazellulärer Registrierung eine Membranhyperpolarisation nachzuweisen.

Neue Gesichtspunkte ergaben die Arbeiten der Gruppe um APRISON und WERMAN, die zeigen konnten, daß:

1. Glykokoll in relativ hohen Dosen speziell im Hinterhorn

des Rückenmarks vorhanden ist (APRISON und WERMAN 1965),
und daß es

2. bei mikroionotoporetischer Applikation zu einer Hyperpolarisation und Widerstandsabnahme der postsynaptischen Membran kommt (WERMAN et al. 1968).

Letzteres wurde in der Folgezeit für das Rückenmark von anderen Untersuchern bestätigt und erweitert (CURTIS et al. 1968 a, b, ten BRUGGENCATE und ENGBERG 1968). Beim quantitativen Vergleich einiger neutraler Aminosäuren war Glykokoll im Bereich des Rückenmarks i.a. der wirksamste Stoff (CURTIS et al. 1968 a, b). Auch Neurone der Formatio reticularis sind offenbar besonders empfindlich gegenüber Glykokoll (HÖSLI et al. 1969, HÖSLI und TEBECIS 1970). KRNJEVIĆ und PHILLIS (1963), KRNJEVIĆ et al. (1966, 1967), KELLY und KRNJEVIĆ (1968) fanden andererseits, daß an der Großhirnrinde γ -Aminobuttersäure (GABA) höchst effektiv ist, und daß Glykokoll dort kaum Wirkungen entfaltet. Im lateralen Vestibulariskern (OBATA et al. 1967, OBATA et al. 1970 ten BRUGGENCATE und ENGBERG 1971) und auch an Okulomotoriusneuronen (OBATA und HIGHSTEIN 1970) sind Effekte von GABA ausgeprägter als die von Glykokoll. Insofern lag die Frage nahe, ob die segmentale Lokalisation von Neuronen entlang der Neuroaxis für die Empfindlichkeit gegenüber Glykokoll und GABA eine Rolle spielen könnte. Die Motoneurone des Hypoglossuskerns schienen für eine solche Untersuchung besonders geeignet, da sie leicht zugänglich unter der Oberfläche des vierten Ventrikels liegen, die anatomischen Verhältnisse genau bekannt (CAJAL 1952) und die bei antidromer Erregung extrazellulär registrierten

fokalen Potentiale (LORENTE de NO 1947) sorgfältig untersucht sind. Eine Substanz, die sich wie ein inhibitorischer Überträgerstoff verhält, muß auch pharmakologisch genau so beeinflussen werden können wie die entsprechende natürliche postsynaptische Inhibition. Es besteht Übereinstimmung darin, daß durch Strychnin viele natürliche Hemmungsabläufe im Rückenmark zu blockieren sind, einschließlich der disynaptischen Ia-Hemmung (CURTIS 1962, ECCLES 1964). Dazu paßt, daß es auch die Wirkungen von Glykokoll blockiert (CURTIS et al. 1968 a, b, 1971).

KELLERTH und SZUMSKI (1966) fanden jedoch strychninresistente, postsynaptische Hemmungsprozesse an Motoneuronen, die durch Picrotoxin zu blockieren waren. Neue Arbeiten haben weitere Beispiele dafür gebracht, daß Picrotoxin postsynaptische Hemmungsabläufe blockieren kann: Die Hemmung der Purkinjezellen des Kleinhirns an Deitersneuronen (OBATA et al. 1970), und den vestibulookulären Reflexen (ITO et al. 1970 a, b), sowie die vestibulär induzierte Hemmung der Okulomotoriusneurone (OBATA und HIGHSTEIN 1970) und die caudatumevozierte Hemmung in der Substantia nigra (PRECHT et al. 1971). Es scheint danach bestätigt, daß Picrotoxin, dem ursprünglich eine spezifische Blockierung der präsynaptischen Hemmung (vgl. ECCLES 1964) zugeschrieben wurde (SCHMIDT 1963, 1971), auch eine Wirkung auf die postsynaptische Membran hat. Ähnlich widersprüchlich sind die Angaben über die Wirkung von Picrotoxin auf Effekte von GABA im ZNS des Warmblüters. Während CURTIS und Mitarbeiter (1968 a) sowie OBATA et al. (1967) keine Blockierung der GABA-Wirkung durch Picrotoxin feststellen konnten, wurden positive Resul-

tate in letzter Zeit von einer Reihe von Untersuchern beschrieben: GALINDO (1969), ten BRUGGENCATE und ENGBERG (1969 a, 1971), ENGBERG und THALLER (1970), OBATA, et al. (1970). Daher schien eine Nachuntersuchung auch des Antagonismus GABA-Picrotoxin im Rahmen der vorgelegten Arbeit wünschenswert.

II. Methodik

1. Allgemeines und Narkose

Die Versuche wurden an 9 Katzen (1,8 - 2,8 kg) und 15 Kaninchen (1,7 - 3,4 kg) durchgeführt. Als einleitende Narkose bei den Katzen diente ein Äther-Fluothangemisch. Nach Tracheotomie und Katheterisierung der Arteria carotis comm. und der Vena jugularis ext. blieb es bis zum Ende der Präparation bei reiner Äthernarkose. Anschließend wurden die Tiere auf einen Registriertisch umgelagert. Während der Ableitungen konnte mit Alpha-Chloralose (30 - 40 mg/kg) eine hinreichende Narkosetiefe erreicht werden. Bei den Kaninchen wurde die Narkose durch eine Injektion von Nembutal (30 - 40 mg/kg) in die Ohrvene eingeleitet. Weitere Gaben von ca. 3 mg/kg/h reichten aus, um während des Versuchs die Narkose zu erhalten.

Der Blutdruck wurde mit einem Statham-Element und einem Druckverstärker der Firma Hellige in der Arteria carotis fortlaufend gemessen. Ein Beckmann Gasanalysator diente zur Bestimmung des CO_2 Gehalts der Luft, der auf einen end-expiratorischen Wert von 4 % eingestellt war. Während der Ableitungen wurden die Tiere relaxiert (Flaxedil, Pancuronium) und künstlich beatmet. In einigen Versuchen mußte zur Verringerung von Pulsationen und atemsynchronen Bewegungen des Hirnstammes bilateral ein Pneumothorax angelegt werden.

2. Präparation

Die beiden Nn.-hypoglossi wurden mehrere Zentimeter frei-

präpariert, an ihrem peripheren Ende durchtrennt und in Plastikröhren eingebettet, in deren Innenwand zwei Silberdrähte zirkulär eingelassen waren, die als bipolare Reizelektroden dienten. Der Kopf des Tieres war in einem Horsley-Clark-Kopfhalter so fixiert, daß er gegenüber der Waagerechten um 30 Grad flektiert war. Das Foramen occipitale majus wurde erweitert und die Dura mater in diesem Bereich abgetragen. Der über dem vierten Ventrikel liegende kaudale Teil des Kleinhirns wurde bei den Katzen abgesaugt, bei den Kaninchen etwas hochgedrängt. Der Hypoglossuskern wurde einen Millimeter lateral der Mittellinie etwa in Höhe des Obex angegangen. In diesem Bereich mußte die Pia mater stellenweise mit feinen Pinzetten entfernt werden, um die Penetration der Mikroelektroden in den Hirnstamm zu erleichtern.

3. Elektroden

Für die Untersuchungen wurden kombinierte Elektroden spezieller Bauart entwickelt, die es erlaubten, geladene Teilchen in das Gewebe zu bringen und gleichzeitig deren Effekte auf das elektrische Verhalten der Nervenzelle zu registrieren. Zur Iontophorese wurden Vielfachelektroden mit drei oder vier Rohren benutzt, die mit einer Ableitelektrode verklebt waren. Um gute Penetrationseigenschaften zu erhalten, war es notwendig, den Gesamtdurchmesser einer Elektrode so klein wie möglich zu halten; der Einzeldurchmesser einer Kapillare sollte andererseits nicht unter 1 μm liegen, um einen ungestörten Stromfluß zu garantieren. Zu diesem Zweck wurden 3

bzw. 4 Glasrohre mit einem Gebläse achsenparallel miteinander verschweißt. Diese Kapillarrohrlinge wurden anschließend mit einem Vertikalpuller üblicher Bauart spitz ausgezogen, und der ausgezogene Teil mittels einer Heizschlinge um ca. 20 Grad abgelenkt. Die eigentliche Spitze der Stromelektrode wurde jetzt mit einer Diamantschleifmaschine auf einen Gesamtdurchmesser von 4 - 5 μm abgeschliffen (Abb. 1). Dabei wurde die Elektrode in eine Halterung eingespannt und mit einem Aufstellwinkel von ca. 30 Grad gegen die Schleifscheibe geführt (Korngröße der Scheibe unter 1 μm).

Die Elektrodenspitze konnte während des Schleifvorganges mit einem an der Schleifmaschine angebrachten Mikroskop beobachtet werden. Da das Auflösungsvermögen des Mikroskopes eine direkte Kontrolle der Elektrodenspitze während des Schleifvorganges nicht zuließ, wurde nur der Auflagedruck der Elektrode, gemessen an der Biegung des Elektrodenschaftes beobachtet und dazu empirisch eine Schleifzeit ermittelt, die den gewünschten Spitzendurchmesser erbrachte. Die Toleranz dieses Verfahrens lag unter 1 μm .

In einem weiteren Arbeitsgang wurde nun die Ableitelektrode konventioneller Bauweise hergestellt und auf einen Spitzendurchmesser von 1,5 μm abgebrochen. Sie wurde mit einem Mikromanipulator (Abb. 2A) möglichst dicht und achsenparallel an den abgelenkten Teil der Elektrodenspitze herangeführt und so justiert, daß ihre Spitze die der Stromelektrode um 30 - 40 μm überragt. Dabei war die Drogenelektrode mit einem zweiten Mikromanipulator bewegbar.

Nach dem Verkleben der äußersten Elektrodenspitzen wurden die Elektrodenschäfte mit einem Zementkleber in der Justierposition fixiert. Abb. 2B zeigt die Position der justierten und verklebten Elektroden. Es ist zu erkennen, daß die Spitze der Stromelektrode abgewinkelt werden mußte, um die Ableitelektrode achsenparallel zu verkleben.

Die Schliffstelle der Drogenelektrode bildete dabei mit dem der Ableitelektrode zugeneigten Rand einen Winkel von ca. 40 Grad , was die Penetrationseigenschaften verbesserte (Abb. 3 A,B).



Abb. 1 Schleifmaschine

Übersichtsaufnahme der Anordnung zum Anschleifen der Elektroden spitzen Schleifmaschine mit Schleifstein und Plastikaufsatz, Bild mitte. Elektrodenhalterung rechts. Durch das im linken Bildteil sichtbare Mikroskop wurde der Auflagedruck während des Schleifvorganges beobachtet.

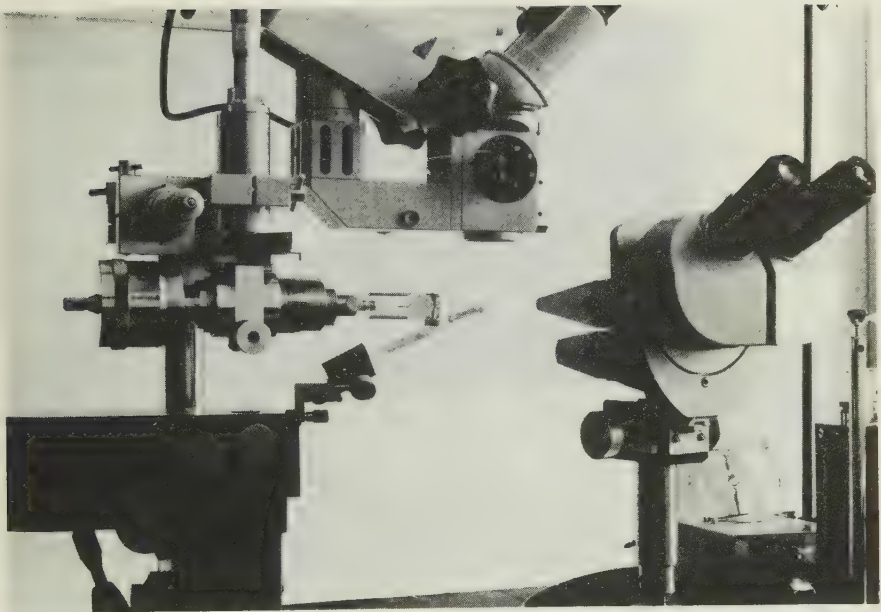


Abb. 2 A Justieranlage zum Verkleben der Elektroden

Der obere Mikromanipulator (Narishige) führt die Ableit-
elektrode, der untere (Leitz) die Stromelektrode. Die Be-
obachtungsmikroskope sind in zwei Ebenen auf die Elektro-
denspitzen gerichtet.

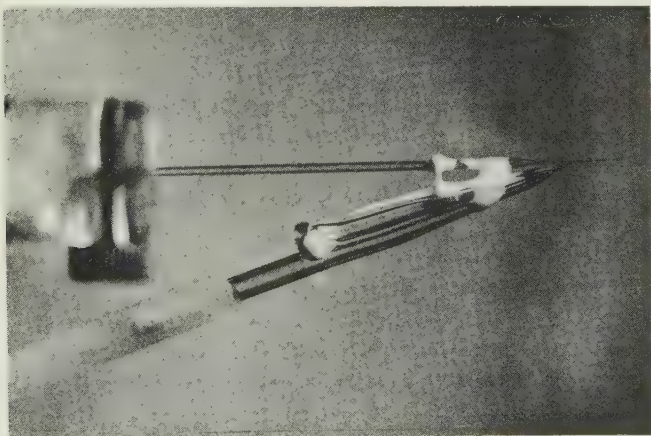


Abb. 2 B Kombinierte Ableit- und Iontophoreseelektrode

Position der Elektroden nach dem Verkleben der feinen
Spitzen. Die Elektrodenschäfte sind mit Zementkleber X-60
in der Justierposition fixiert (weiße Substanz).

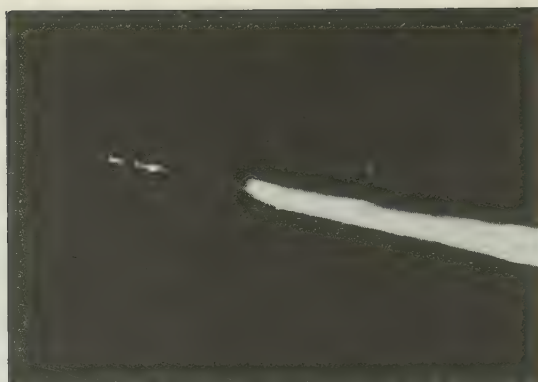
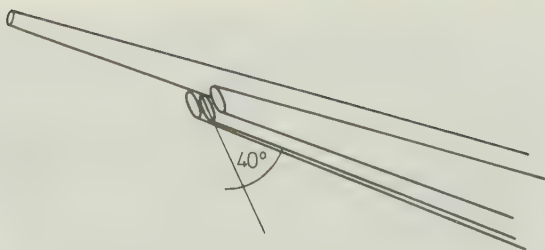


Abb.3 Mikroskopische Aufnahme und Skizze der Elektrodenpitze

- A Vergrößerung $1 : 10^3$. Die Ableitelektrode überragt die Stromelektrode um ca. $30\text{ }\mu\text{m}$. Die Öffnungen der Stromelektrode sind nicht zu erkennen, da sie seitlich mit Klebstoff überzogen sind (stark reflektierender Bereich).



- B Schematische Zeichnung zur Erläuterung von Abb. 3A

Abb. 3A zeigt eine mikroskopische Aufnahme der verklebten Elektroden spitzen (Vergrößerung 1 000-fach). Die Elektroden spitzen wurden mit einem Polyesterinkleber verklebt, der bereits in kleinen Mengen aufgetragen ein Auseinanderweichen der beiden Elektroden spitzen verhinderte.

Die Ableitelektroden waren mit 2 molarer K-Citratlösung gefüllt, mit einem Zusatz von 0,1 molarer KCl-Lösung (4 %). In einigen Fällen wurden auch Pipetten verwendet, die mit 2 molarer KCl-Lösung gefüllt waren.

GABA, Glykokoll, AVA und ACA wurden in 0,5 molaren Lösungen benutzt, deren pH-Wert durch die Zugabe von 0,1 eq HCl auf 3 - 3,5 eingestellt war. Dabei wurden die Iontophorese pipetten zur Füllung der Spitzen in Aqua dest. gestellt und danach vom Elektrodenschaft her mit den einzelnen Drogen beschickt. Die Diffusion der Drogen von der Schaftbasis bis in die Spitze dauerte ca. 12 Stunden und dokumentierte sich in einem Absinken des Elektrodenwiderstandes von über 500 M Ω auf 25 - 40 M Ω .

Die elektrischen Widerstände der Ableitelektroden lagen zwischen 4 und 15 M Ω . Strychnin wurde in einer Konzentration von 10 mM/l in 165mM NaCl gelöst, Picrotoxin in 165 mM NaCl-Lösung bis zur Sättigung.

4. Iontophoresegerät

Das Iontophoresegerät war mit vier von einander unabhängigen Kanälen ausgestattet, die es erlaubten, in vier Iontophoresekapillaren gleichzeitig Ströme fließen zu lassen. Das Gerät

konnte auch bei Änderung des Elektrodenwiderstandes in weiten Bereichen den eingestellten Strom konstant halten, da mittels eines Regelkreises Widerstandsänderungen mit einer Spannung bis zu 50 V kompensiert werden konnten. Die maximalen Ionenströme lagen bei ca. 450 nA; sie wurden bei nicht blockierenden Elektroden erreicht. Die Stromstärke konnte mittels eines Stufenschalters (25 Stufen) reproduzierbar eingestellt werden, wobei jedem Schaltersschritt eine Stromerhöhung von 20 % des Ausgangswertes entsprach (Abweichung ca. 5 %).

Um Diffusionsflüsse der Drogen ins Gewebe zu verhindern, konnte ein Rückhaltestrom mit einer dem Ejektionsstrom entgegengesetzten Polarität angelegt werden. Die maximale Treiberspannung für diesen Strom betrug 1,5 V und lieferte in der Regel einen Rückhaltestrom bis zu 30 nA. Bei Erhöhung des Elektrodenwiderstandes konnte mit einer Cleaningspannung von 50 V und umschaltbarer Polarität versucht werden, die Elektrode wieder stromdurchgängig zu machen. Der Stromfluß durch die Elektrode war für jeden Kanal an einem gesonderten Nanoampèremeter ablesbar (Empfindlichkeit 0 - 50 nA bzw. 0 - 500 nA).

5. Registriereinrichtung

Die zur Registrierung verwandten Mikrokapillaren waren mit der Eingangsstufe eines Kathodenfolgers verbunden (EIDE 1968), in die die abgeleiteten Signale mittels einer Silberchloridbrücke eingeführt wurden. Die obere Frequenzbreite des Ver-

stärkers betrug 1 MHz. An den Elektroden auftretende Kapazitäten konnten mit einer Kapazitätsrückkoppelung bis ca. 2 pF kompensiert werden. Gleichspannungspotentiale, die sich an der Spitze der Elektrode oder an ihrem Schaft aufbauten, waren mit einer Gegenspannung bis zu ± 1 V verstärkerseitig abgleichbar. Das Gerät war mit zwei unabhängigen Strom- und Impulsgeneratoren ausgestattet, die es ermöglichten, konstanten Strom als Gleichstrom oder als Rechteckimpuls über die Ableitelektrode fließen zu lassen. Der während der Dauer des Stromflusses auftretende Spannungsabfall über dem Elektrodenwiderstand war mittels einer Wheatstoneschen Brückenschaltung kompensierbar. Die stromkonstanten Pulse dienten zur Messung des Membranwiderstandes bei Drogenapplikation (s.S. 22). Ein weiterer Puls-generator konnte je nach Bedarf als Konstantstromgenerator (Messung des Elektrodenwiderstandes), oder als Konstantspannungsgenerator (Spannungskalibrierung) wechselweise benutzt werden. Die Ausgangsspannung des Kathodenfolgers lieferte bereits eine zehnfache Signalverstärkung. Sie wurde über Einschubverstärker vom Typ 3A9 oder 2A63 (Bandbreite 0,1 Hz - 1 MHz) auf zwei Kathodenstraloszillographen Typ 565 vom Tektronix registriert. Mit einer Kamera der Firma Grass wurden diese Signale fotografiert oder einem Computer der Firma Intertechnique (Didac 800) zugeführt und dort nach Verarbeitung auf einem eigenen Oscilloscopschirm ausgegeben. Ein Tintenschreiber der Firma Elema-Schönander-Siemens (Frequenzbreite 0 - 700 Hz) diente einer zusätzlichen Gleichspannungsregistrierung des Membranpotentials.

6. Intertechnique DIDAC 800

Ein Großteil der Untersuchungen behandelte nach antidromer Aktivierung des Nervus Hypoglossus in dessen Kerngebiet auftretende fokale Potentiale, wobei die Einflüsse der Aminosäuren auf die Größe dieser fokalen Potentiale registriert wurden. Um zu vermeiden, daß statistische Schwankungen der fokalen Potentialamplituden, wie sie unter Versuchsbedingungen vorkommen, die Messungen verfälschen, wurden die Signale mit einem Computer der Firma Intertechnique gemittelt.

Die in der Dokumentation dargestellten Signale sind Mittelwerte von 45 Einzelsignalen. Die Speicherkapazität des Gerätes betrug 800 Adressen. Im allgemeinen wurden immer 200 Adressen dazu verwandt, ein Signal zu mitteln. Auf diese Weise konnten vier fokale Potentiale gemittelt und auf dem Oszilloskopschirm nebeneinander sichtbar gemacht werden. Das Verfahren wurde in folgenden Einzelschritten durchgeführt:

Zunächst wurden 45 Einzelsignale des unbeeinflussten antidromen fokalen Potentials gemittelt und in der ersten Untergruppe als Kontrollregistrierung gespeichert. Danach wurde der Mittelwert von 45 Signalen während der Ejektion einer Testsubstanz in der zweiten Untergruppe gespeichert und der Drogeneffekt beobachtet. Nach Ende der Drogenapplikation wurde in der dritten Untergruppe erneut gemittelt und die Rückkehr des fokalen Potentials zu seiner ursprünglichen Größe kontrolliert. Erst wenn das fokale Potential die Größe des Kontrollpotentials erreicht hatte, wurde eine weitere Testsubstanz gegeben und deren Wirkung in der vierten Untergruppe

gemittelt. Die Kontrollvergleiche der Potentialamplituden sind in der Dokumentation nicht dargestellt. Es wurde besonders darauf geachtet, den Start der Mittlungen gegenüber dem Iontophoresebeginn konstant zu halten.

7. Membranwiderstandsmessungen

Zur Messung des Membranwiderstandes wurde ein stromkonstanter Rechteckpuls zwischen Ableitelektrode und Referenzelektrode gelegt. Der Membranwiderstand von Motoneuronen (ECCLES 1957) liegt in Ruhe in der Größenordnung von 1 - 2 M Ω . Die Widerstände der benutzten Elektroden betrugen 4 - 8 M Ω . Bei Penetration einer Zelle addiert sich ihr Membranwiderstand zu dem der Elektrode. Um die Membranwiderstandsmessungen möglichst genau durchzuführen wurde der Spannungsabfall über dem Elektrodenwiderstand mittels einer Wheatstoneschen Brückenschaltung kompensiert; d.h. der Strompuls wurde verstärkerseitig mittels einer Wheatstoneschen Brückenschaltung so behandelt, daß er auf dem Oscilloskop nicht mehr sichtbar war. Bei kompensiertem Elektrodenwiderstand entspricht der Spannungsabfall des stromkonstanten Pulses, der auf dem Oscilloskop ablesbar ist, dem Spannungsabfall über dem Membranwiderstand. Bei Applikation von Aminosäuren kam es zu einer Verringerung dieses Spannungsabfalles (vergl. Abb. 6). Bei gleichbleibendem Strompuls und Elektrodenwiderstand kann dies nur als eine Verringerung des Membranwiderstandes gedeutet werden.

III. Ergebnisse

A. Extra- und intrazelluläre Ableitungen mit Einzelelektroden

Um Erfahrungen über die Lage des Hypoglossuskerns und das Verhalten seiner Neurone zu sammeln, wurde zuerst mit Einzelkapillaren abgeleitet. Die Motoneurone wurden durch ihre antidrome Invasion nach Reizung des N. hypoglossus identifiziert.

Bei extrazellulären Ableitungen auftretende fokale Potentiale entsprachen den von LORENTE de NÔ (1947) beschriebenen Beobachtungen. War die Elektrode im Inneren des Kerns plaziert, konnte nach einer Latenz von 1 - 2 ms, eine kleine positive initiale Deflexion beobachtet werden, die in ein negatives Potential von 2 - 5 mV und etwa 2 ms Dauer überleitete. Bei intrazellulären Ableitungen waren häufig in der nachhyperpolarisatorischen Phase des antidromen Aktionspotentials Auslenkungen des Membranpotentials zu sehen, die wahrscheinlich durch postsynaptische Potentiale (PSP's) verursacht waren. Besonders deutlich wurden diese PSP's in Zellen, in denen die antidrome Invasion blockiert war. Diese Resultate stimmen mit den von PORTER (1965) beschriebenen Beobachtungen überein. Die abgeleiteten Deflexionen bestanden in der Regel aus einem Gemisch von excitatorischen und inhibitorischen PSP's, so daß definierte Umkehrpotentiale nicht bestimmbar waren. Es war daher auch nicht möglich, Gleichgewichtspotentiale von PSP's mit Gleichgewichtspotentialen der Aminosäurenwirkung zu vergleichen.

B. Untersuchungen mit Iontophoresetechnik

1. Qualitative Untersuchungen von Aminosäuren

Außer mit GABA und Glykokoll wurden noch orientierende Untersuchungen mit β -Alanin und 5-Aminovaleriansäure (AVA) durchgeführt, Aminosäuren, von denen ebenfalls inhibitorische Wirkungen beschrieben sind (CURTIS, HÖSLI, JOHNSTON 1968 a,b). Die zugrundeliegenden Ionenprozesse (vergl. Einleitung) sollten die Amplituden von PSP's ebenso wie die von Konstant-Strompulsen verkleinern und die antidrome Invasion verzögern bzw. erschweren. Entsprechende Befunde konnten auch an Hypoglossusmotoneuronen unter Einwirkung von Aminosäuren erhoben werden. Abb. 4A zeigt superponierte Oscillogopstrahlen mit antidromen Aktionspotentialen vor, während und nach Gabe von AVA. Man erkennt, daß in der Kontrolle die Invasion zeitweise nur das initiale Segment des Neurons erfaßt (vergl. ECCLES 1957). Unmittelbar nach Einschalten des Mikroelektrophoresestromes (Abwärtspfeil) erfolgt die Invasion des SD-Segmentes regelmäßig; wahrscheinlich auf Grund einer mit dem Stromfluß gekoppelten physikalischen Depolarisation der Membran. Anschließend macht sich die Wirkung von AVA bemerkbar, die zu einer Blockierung der Invasion im IS-Bereich führt, mit nachfolgender stetiger Amplitudenabnahme des IS-Spikes. Die einfachste Deutung für die Verkleinerung des IS-Spikes dürfte ein unter Aminosäurewirkung kontinuierlich abnehmender Membranwiderstand sein.

in mehreren Fällen, in denen die antidrome Invasion blockiert war, konnten polysynaptische PSP's abgeleitet werden, deren Amplitude sich unter Aminosäuregabe verkleinerte. Abb. 4 B gibt ein Beispiel für Glykokoll.

Als Korrelat der inhibitorischen Wirkung auf die antidrome Zellinvasion konnten Einflüsse auf das extrazellulär ableitbare fokale Potential gesehen werden. Abb. 4 C zeigt, wie die Amplitude des antidromen fokalen Potentials während Aminosäureiontophorese (GABA) abnimmt. Das prominente antidrome Feld schien für quantitative Vergleiche der Aminosäurewirkung besonders geeignet zu sein, da es verhältnismäßig stabile Meßbedingungen über längere Zeiten ermöglichte. Dabei stellte sich heraus, daß GABA und Glykokoll die stärkste Wirkung von allen untersuchten Aminosäuren zeigten, so daß im folgenden die Untersuchung der Wirkungen dieser beiden Substanzen im Vordergrund stand. Vor einem quantitativen Vergleich der Wirkung von GABA und Glykokoll soll an einem Beispiel die Membranwirkung von Glykokoll demonstriert werden.

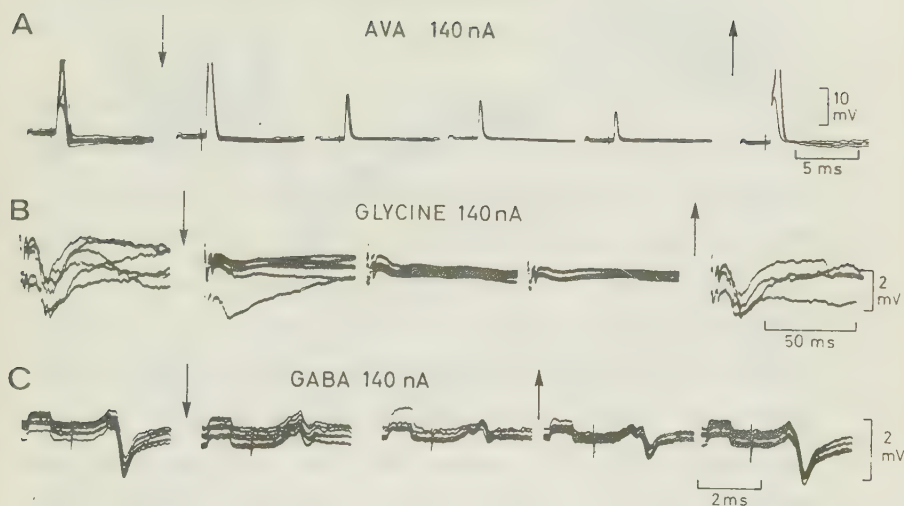


Abb. 4 Effekte neuraler Aminosäuren auf neuronale Aktivitäten im Hypoglossuskern

- A Blockierung der antidromen Invasion eines Hypoglossusmotoneurons während extrazellulärer Applikation von AVA (140 nA.).
- B Verminderung der Amplitude synaptischer Potentiale durch Glykokoll (140 nA).
- C Extrazelluläre Aufzeichnung eines antidromen fokalen Potentials. Reduktion seiner Amplitude durch GABA (140 nA).

In allen Beispielen sind 5 - 8 Strahlendurchgänge des Oszilloskops superponiert. Zwischen je 2 Beispielen lagen ca. 2 s. Nach der Kontrollaufnahme (ganz links) ist das Anschalten des Iontophoresestromes durch einen Abwärtspfeil markiert. Nach einigen Messungen, die die Entwicklung des Drogeneffektes hinreichend deutlich demonstrieren, wird der Iontophoresestrom abgeschaltet (Aufwärtspfeil), und die Rückkehr des Signals auf seine ursprüngliche Form abgewartet. (Kontrollaufnahme ganz rechts).

2. Veränderungen von Membranwiderstand und Membranpotential während Glykokolliontophorese

Die Veränderungen der Zellmembran unter der Einwirkung von Aminosäuren wurden durch kontinuierliche Registrierung des Membranpotentials untersucht. Ein gleichzeitig durch die Ableitelektrode intrazellulär applizierter stromkonstanter Puls ermöglichte die Beobachtung von Veränderungen der Membranleitfähigkeit (siehe Methodik). In Abb. 5 ist ein solcher hyperpolarisierender Strompuls (Dauer 2 ms, Amplitude 2 nA) gegeben. Kapazitive Glieder in der Zellmembran bewirken, daß der Spannungsverlauf erst nach einer gewissen Zeitdauer seine volle Höhe erreicht, die nach Kompensation des Elektrodenwiderstandes (siehe Methodik) weitgehend von dem Widerstand der Membran bestimmt wird. Die Registrierungen solcher Pulse während eines Glykokollstromes von 400 nA zeigen eine deutliche Verminderung der Pulshöhe, woraus auf eine Erhöhung der Membranleitfähigkeit geschlossen werden kann. Bei Beobachtung des Membranpotentials während der Glykokolliontophorese entwickelt sich ein bis zwei Sekunden nach Einschalten des Stromes eine Hyperpolarisation, die ein Maximum von über 5 mV erreicht und im gegebenen Beispiel trotz unvermindertem Glykokollstrom langsam abnimmt. Nach Ausschalten des Glykokollstromes (Pfeil nach oben) kehrt das Membranpotential wieder auf seinen Ruhewert zurück. Die schnellen hyperpolarisatorischen Auslenkungen in der Membranpotentialregistrierung stellen reizinduzierte PSP's dar,

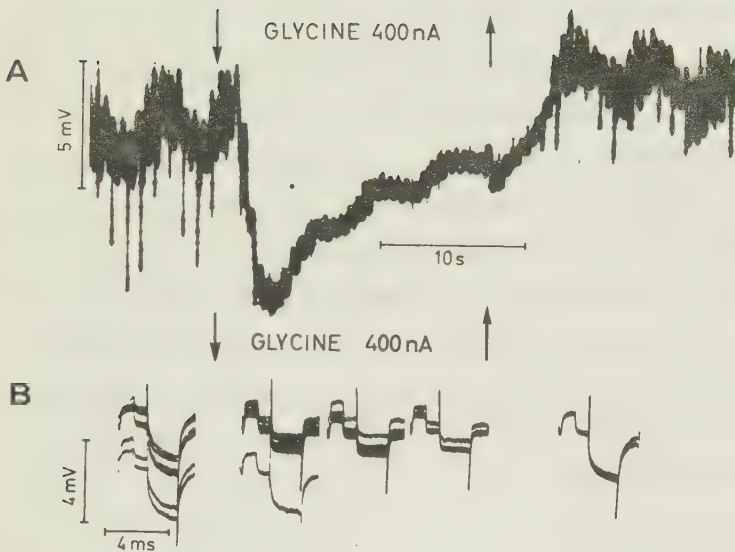


Abb. 5 Wirkung von Glykokoll auf die Leitfähigkeit der Zellmembran und das Membranpotential.

- A. Registrierung von superponierten, durch die Ableitelektrode intrazellulär gegebenen stromkonstanten hyperpolarisierenden Rechteckpulslen. Pulsmessungen innerhalb der Pfeile sind während der Glykokollapplikation vorgenommen worden und entsprechen zeitlich den Markierungen in Abb.5 B. Es wurden 4 - 8 Strahlendurchgänge des Oszilloskops fotografiert. Pulsregistrierung mit einer Zeitkonstante von 0,1 s. Daher ist die Hyperpolarisation des Membranpotentials von Abb. 5 B in 5 A nicht zu sehen.

deren Amplitude unter Glykokollgabe stark reduziert ist. Möglicherweise ist die Tatsache, daß ihre Amplitude im Anschluß an die Glykokollejektion kleiner als in der vorangehenden Kontrollsituation ist, auf die Füllung der Ableit-elektrode mit KCl zurückzuführen; durch Diffusion von Chloridionen in die Zelle könnte sich das Gleichgewichtspotential für Chloridionen, auf welches das IPSP zustrebt, verringert haben und dessen Amplitude demzufolge verkleinert worden sein. Die gleiche Deutung ist auf die Verringerung der Glykokollhyperpolarisation bei längerer Aminosäureapplikation anwendbar.

3. Quantitativer Vergleich der Wirkung von Glykokoll und GABA

Es erwies sich als schwierig, intrazelluläre Ableitungen von ausreichender Anzahl und Dauer zu erhalten, um die Stärke der Aminosäurewirkungen quantitativ zu vergleichen. Diese Umstände machten es notwendig, die Wirkungen verschiedener Aminosäuren allein durch ihre Beeinflussung der extrazellulären fokalen Potentiale zu quantifizieren. Die ausführlichen Untersuchungen der extrazellulären Potentiale des Kerngebietes von LORENTE de NÓ (1947) bildeten hierfür die Arbeitsgrundlage. Repräsentativ sind in Abb. 6 die Wirkungen von Glykokoll (A) und GABA (B) auf das extrazelluläre fokale Potential dargestellt. Die Position der Elektrode im Kerngebiet wurde während der Messungen dieses Versuches nicht verändert. Das erste Bild zeigt das antidrome Feld vor Aminosäuregabe als Kontrolle (CON); dabei wurden 45 Einzelsignale gemittelt (s. Methodik). Dieses antidrome Feld ändert seine Amplitude nicht während der Passage von 300 nA kationischen Stromes aus der NaCl-Elektrode (Na^+ 300); das bedeutet, daß der Iontophoretrom von Kationen per se keine Wirkung hatte. Hingegen ist deutlich zu erkennen, daß sich die Potentialamplitude bei schrittweiser Erhöhung des GABA-Iontophoresestromes verringert. Abb. 6 B ist eine entsprechende Darstellung der Einflüsse von Glykokoll auf das fokale Potential. C zeigt eine grafische Auftragung der Ergebnisse dieses Versuches in Form von Dosiswirkungskurven. Bei allen Stromhöhen ist Glykokoll wirksamer als GABA. Glykokoll reduziert das fokale Potential gegenüber GABA um annähernd den doppelten Betrag. In 71 % der benutzten Elektroden war Glyko-

koll wirksamer als GABA. In 12 % waren die Wirkungen etwa gleich, und in 17 % war GABA stärker wirksam als Glykokoll.

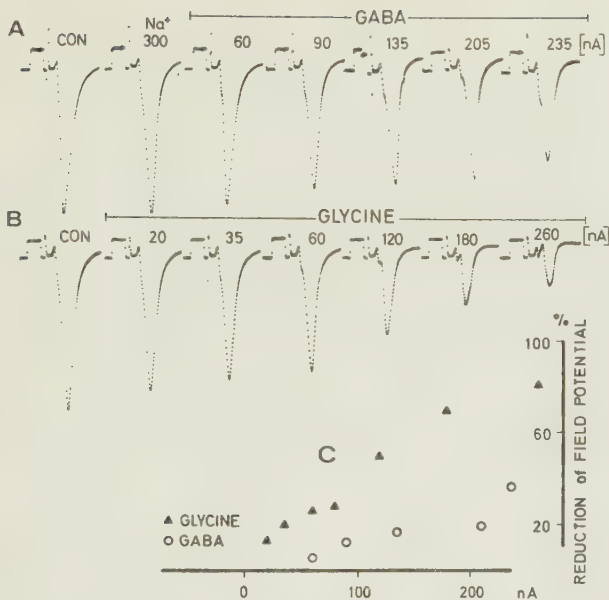


Abb. 6 Beeinflussung der Amplitude des antidromen fokalen Potentials durch ansteigende Dosen von Glykokoll und GABA

Potentialregistrierung mittels Averaging-Technik (s.Methodik).

A CON: Antidromes fokales Potential ohne Iontophoresestrom
Na⁺: Antidromes fokales Potential bei kationischem Strom von 300 nA aus der NaCl Elektrode.

Unter dem Querbalken sind Beispiele für die GABA-Wirkung dargestellt. Ansteigende Iontophoresestromstärke in nA. Nach der jeweiligen GABA-Applikation wurde der Iontophoresestrom abgeschaltet und abgewartet, bis das Feld die Höhe des Kontrollfeldes wieder erreicht hatte. Diese Zwischenkontrollen sind nicht abgebildet.

B CON: antidromes fokales Potential ohne Iontophoresestrom. Unter dem Querbalken eine Reihe von antidromen fokalen Potentialen bei steigender Glykokollgabe. Iontophoreseströme in nA.

C Dosiswirkungskurve von Glykokoll und GABA.

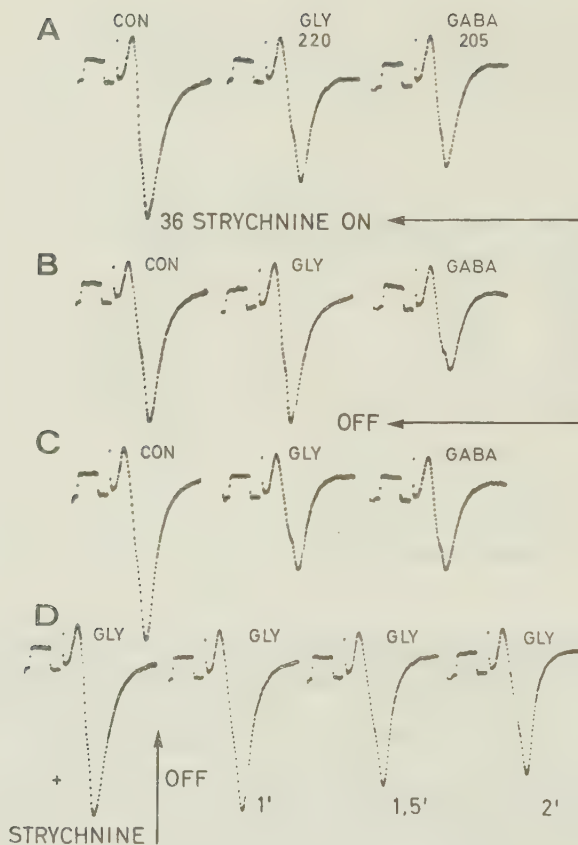


Abb. 7 Selektive Blockierung des Glykokolleffektes durch iontophoretische Gabe von Strychnin

- A CON: Antidromes fokales Potential bei abgeschaltetem Iontophoresestrom. Wirkung von Glykokoll 220 nA und GABA 205 nA auf das antidrome fokale Potential.
- B Wie in A, jedoch während iontophoretischer Gabe von Strychnin. Die Wirkung von Glykokoll ist aufgehoben.
- C Kontrolle der Wirksamkeit von Glykokoll und GABA ca. 5 Min. nach Abschalten des Strychninstromes.
- D Zeitgang und Rückkehr des Glykokolleffektes nach Abschalten des Strychninstromes.

4. Wirkungen von Aminosäureblockern

a. Strychnin

Es wurde untersucht, ob die beschriebenen inhibitorischen Wirkungen von Glykokoll oder GABA auf das antidrome fokale Potential sich änderten, wenn zusätzlich zu diesen Aminosäuren Strychnin gegeben wurde. In allen untersuchten Fällen war es möglich, die Wirkung von Glykokoll bei intravenöser Gabe von Strychnin zu reduzieren und bei iontophoretischer Applikation sogar völlig aufzuheben. Hingegen wurden Effekte von GABA durch Strychnin nicht beeinflusst. Abb. 7 gibt ein Beispiel für diese spezifische Wirkung des Strychnins.

Abb. 7 A zeigt das antidrome Feld ohne Applikation von Aminosäuren (CON), sowie die Effekte von Glykokoll (220 nA) bzw. GABA (205 nA). In 7 B ist gezeigt, daß iontophoretische Applikation von Strychnin mit 36 nA bereits zu einer kompletten Blockierung der Glykokollwirkung ausreicht. GABA hingegen wirkt noch trotz des Vorhandenseins von Strychnin. 7 C - aufgenommen etwa 5 Min. nach Abschalten des Strychninstromes - zeigt, daß die Strychninwirkung reversibel ist, und 7 D illustriert den Zeitgang unmittelbar nach Abschalten des Strychninstromes, in dem Glykokoll nach einigen Minuten seine Wirkung wieder entfaltet.

b. Picrotoxin

In allen Fällen, in denen nicht blockierende (s. Diskussion) Picrotoxinelektroden benutzt wurden (6 Elektroden), gelang es, durch Picrotoxinapplikation die Wirkung von GABA auf-

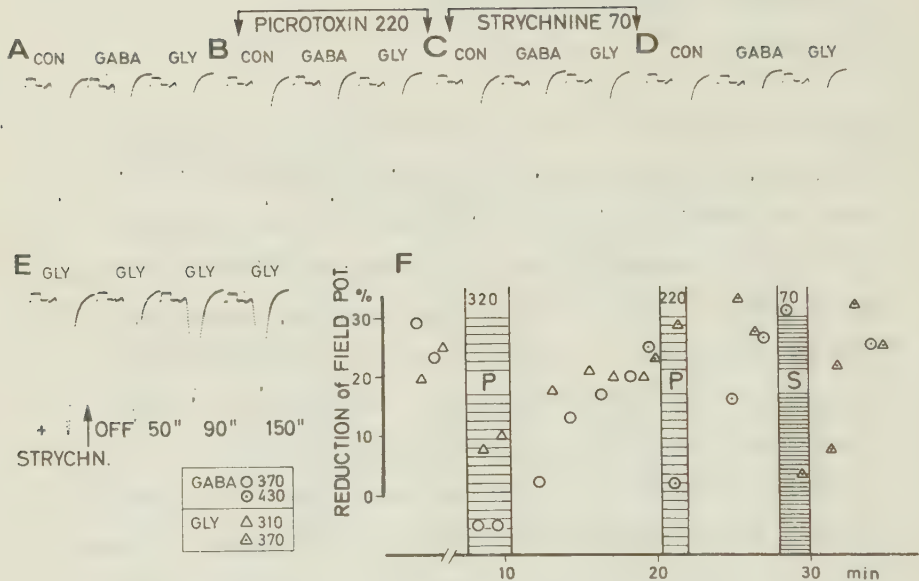


Abb. 8 Wirkung von Picrotoxin und Strychnin auf die Reduktion des fokalen Potentials durch Glykokoll und GABA

- A Antidromes fokales Potential ohne Applikation von Aminosäuren (CON), sowie während iontophoretischer Applikation von GABA (430 nA) bzw. Glykokoll (370 nA).
- B Bei gleicher Elektrodenposition und gleichen Stromstärken wie in A wurde während der Kontrolle sowie während Applikationen von Glykokoll und GABA zusätzlich ein Picrotoxiniontophoresestrom von 220 nA gegeben. Balken mit Pfeilen markieren Registrierungen während Picrotoxingabe. Selektive Auslöschung der GABA-Wirkung.
- C Gleiche Messungen wie in B, jedoch mit einem Strychnin-iontophoresestrom von 70 nA. Balken mit Pfeilen markieren Registrierungen bei angeschaltetem Strychnin-strom.
- D 3 - 5 Min. nach der Picrotoxin- bzw. Strychningabe wurden die Messungen von A zur Kontrolle wiederholt.
- E Beobachtungen des Abklingens der Strychninwirkung. Das erste Potential ist unter einem Iontophoresestrom von 370 nA Glykokoll und 70 nA Strychnin registriert worden. Der Einfluß von Glykokoll auf das fokale Potential wurde jeweils in den unten angegebenen zeitlichen Abständen vom Ausschalten des Strychnin-stromes gemessen.

- F Grafische Darstellung der Effekte von Picrotoxin (320 nA bzw. 220 nA) und Strychnin (70 nA) auf inhibitorische Wirkungen von GABA und Glykokoll. Abszisse: Zeit; Ordinate: Reduktion des fokalen Potentials in Prozent der Kontrollamplitude. Die Strommengen, mit denen GABA und Glykokoll iontophoretisch appliziert wurden sind durch verschiedene Symbole verdeutlicht. Zusätzliche Stromapplikationen durch die Picrotoxin- bzw. Strychninkapillare sind mittels gestrichelter Balken angedeutet. Selektive Blockierungen der GABA Wirkung durch Picrotoxin (220 nA) und der Glykokollwirkung durch Strychnin (70 nA). Langsamer Rückgang der Blockerwirkung jeweils über mehrer Minuten.

zuheben oder zu reduzieren. Allerdings waren hierzu regelmäßig höhere Iontophoreseströme notwendig als bei Strychnin. Abb. 8 illustriert die Ergebnisse eines derartigen Versuchs. Die Anordnung der antidromen Felder entspricht der in Abb. 7. Ein Vergleich von Abb. 8 A mit 8 B zeigt, daß unter 220 nA Picrotoxin die GABA-Wirkung aufgehoben ist, nicht aber die Glykokollwirkung. Umgekehrte Verhältnisse finden sich in Abb. 8 C während Strychninapplikation von 70 nA. Die Effekte von Picrotoxin und Strychnin sind reversibel, wie Abb. 8 D zeigt. In Abb. 8 F sind noch einmal die Meßwerte grafisch aufgetragen. Es ist zu erkennen, daß bei sehr hohen Picrotoxinströmen (320 nA) auch die Glykokollwirkung leicht verringert ist. Eine Beeinflussung der Glykokollrezeptoren durch hohe Konzentrationen von Picrotoxin scheint demnach nicht ausgeschlossen. Um den Gesamtdurchmesser der verwendeten Elektroden nicht zu stark zu vergrößern (ungünstige Penetrationseigenschaften im Gewebe), wurden Elektroden mit nur vier Rohren verwendet. Eine Kontrolle eventueller Stromeffekte mit einer zusätzlichen NaCl-Kapillare war in diesen Fällen nicht möglich und auch nicht notwendig, da die Nichtbeeinflussung einer Aminosäurewirkung durch Picrotoxin oder Strychnin als indirekte Stromkontrolle angesehen werden kann. Es ist zu erkennen, daß bei Picrotoxingabe die Glykokoll- und bei Strychningabe die GABA-Wirkung unbeeinflusst blieben.

In Abb. 9 sind noch einmal Beispiele der inhibitorischen Wirkung von Glykokoll und GABA unter dem Einfluß von Picrotoxin und Strychnin dargestellt, wobei Picrotoxin iontophoretisch und Strychnin intravenös gegeben wurden. Für die Kontrollsituation (Abb. 9A) wurden die Iontophoreseströme von Glykokoll und GABA so eingestellt, daß beide Drogen das fokale Potential um den gleichen Betrag verkleinerten. Bei Überlagerung der fokalen Potentialregistrierungen mit einem Picrotoxinstrom von 125 nA (Abb. 9 B) ist die GABA-Wirkung fast vollständig aufgehoben. Der Zeitverlauf, mit dem die GABA-Wirkung nach Abschalten des Picrotoxinstromes wieder einsetzt ist in Abb. 9C ersichtlich. Zur Darstellung der Reversibilität der Kontrollsituation dient Abb. 9 D. Eine intravenöse Injektion von 0,3 mg/kg Strychnin führt nach etwa 2 Minuten zu einer starken Verringerung des Glykokolleffektes (Abb. 9 E). Eine erneute Strychnininjektion nach ca. 8 Min. hebt die Glykokollwirkung vollständig auf, wobei unter gleichzeitiger iontophoretischer Applikation von 220 nA Picrotoxin keine Aminosäurewirkungen mehr zu erkennen sind (Abb. 9 F). Die im unteren Teil von Abb. 9 dargestellte Grafik vermittelt eine Übersicht über den Gesamtverlauf, der oben beschriebenen Messungen. Picrotoxin (160 nA) vermindert selektiv die GABA-Wirkungen. In höheren Dosen (180 nA) ist daneben eine partielle Blockierung der Glykokoll-Wirkung zu erkennen. GABA- wie Glykokolleffekte kehren nach Abschalten des Picrotoxinstromes langsam mit einem Zeitverlauf von über 3 Min. auf die Werte der Kontrollsituation zurück.

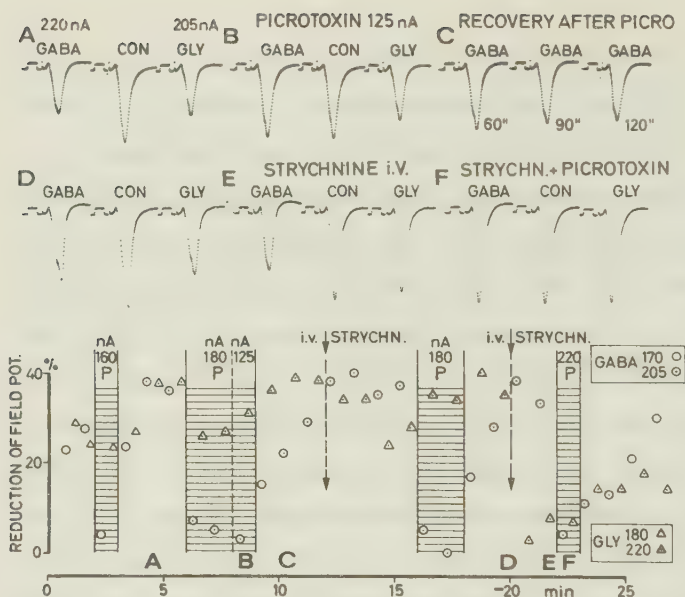


Abb. 9 Wirkungen von Glykokoll und GABA auf das antidrome fokale Potential und ihre Blockierung durch Gabe von Strychnin (intravenös) und Picrotoxin (iontophoretisch)

Die Registrierung der fokalen Potentiale erfolgte über einen Rechner, wobei jedes Potential den Mittelwert von 45 Einzelpotentiale darstellt.

A Kontrollsituation

B Blockierung der GABA-Wirkung durch Picrotoxin, ejiziert mit 125 nA. Glykokoll ist dabei noch wirksam

C Rückkehr der GABA-Wirkung nach Abschalten des Picrotoxinstromes.

D Kontrollsituation nach Picrotoxin und vor Strychnin.

E Partielle Blockade der Glykokollwirkung durch Strychnin intravenös.

F Blockade von Glykokoll und GABA nach einer weiteren Strychnininjektion plus erneuter Picrotoxiniontophorese.

Unterer Teil des Bildes :

Darstellung des gesamten Versuchsablaufes. Die Wirkung von GABA und Glykokoll ist als prozentuale Reduktion des antidromen fokalen Potentials dargestellt und jeweils auf zwischenzeitlich registrierte Kontrollen bezogen. Die mit Buchstaben markierten Zeitabschnitte entsprechen den Registrierungen der antidromen fokalen Potentiale, die unter dem jeweiligen Buchstaben dargestellt sind. Iontophoreseströme gehen aus den Symbolen hervor.

IV. Diskussion

Von mehreren Substanzen aus der Gruppe der neutralen α -Aminosäuren wird eine hemmende Wirkung auf Nervenzellen verschiedener Regionen des ZNS des Säugers beschrieben. Die Arbeiten der letzten Jahre haben zwei Aminosäuren, nämlich GABA und Glykokoll als mutmaßliche hemmende Überträgerstoffe in den Vordergrund der Untersuchungen gestellt.

Die Messungen am N. nervi hypoglossi unterstützen diese Befunde insofern, als diese beiden Substanzen iontophoretisch appliziert die stärkste Hemmwirkung von allen getesteten Aminosäuren zeigen und eine Hyperpolarisation verbunden mit einer Erhöhung der Membranleitfähigkeit in den Motoneuronen dieses Kerns bewirken. Die inhibitorische Wirkung von Glykokoll war in den meisten Fällen stärker als die von GABA.

Diese stärkere Hemmwirkung von Glykokoll gegenüber GABA unterstützt die Vorstellung, daß die GABA-hemmung um so ausgeprägter wird, je näher die untersuchten Neuronenpopulationen der Großhirnrinde gelegen sind, während die Glykokollwirkung in absteigender Richtung entlang der Neuroaxis zunimmt.

Fast alle in dieser Arbeit beschriebenen Drogenwirkungen sind durch iontophoretische Applikation der Testsubstanzen erzeugt worden. Der Vorteil dieser Technik besteht darin, eine Sub-

stanz in geringer Menge in die unmittelbare Umgebung einer Zelle zu transportieren. Auf diese Weise wird eine breite systemische Wirkung ausgeschlossen oder eine Diffusionsbarriere, wie sie z. B. die Bluthirnschranke bei intravenöser Applikation darstellt, umgangen.

Der komplizierte Bau der Iontophoreseelektroden und die unübersichtlichen Bedingungen bei der Drogengabe mit konstanten Strömen, wobei sich physikalische Effekte mit der Substanzeinwirkung auf die Zellmembran überlagern können, machen einige Bemerkungen über die Zuverlässigkeit dieser Technik notwendig. Die höhere Wirksamkeit von Glykokoll gegenüber GABA kann nicht unmittelbar als stärkere inhibitorische Wirkung an der Zellmembran interpretiert werden, solange nicht mehrere messtechnisch bedingte Fehlermöglichkeiten ausgeschlossen sind; als erstes könnten unterschiedliche Transportzahlen (s. Sachwortverzeichnis) den Wirkungsunterschied dieser beiden Substanzen hervorgerufen haben. Noch unveröffentlichte Messungen von Zieglgänsberger und Mitarbeitern zeigen jedoch, daß die Transportzahlen für Glykokoll und GABA sich bei den benutzten pH-Werten nur sehr geringfügig unterscheiden, so daß es unwahrscheinlich erscheint, daß bei gleichen Strommengen wesentlich mehr Moleküle Glykokoll als GABA die Kapillare verlassen und so die stärkere Glykokollhemmung vortäuschen könnten. Die Messungen von Zieglgänsberger und Mitarbeitern weisen auch daraufhin, daß sich die Transportzahlen, wenn auch geringfügig, mit steigenden Kapillardurchmessern vergrößern. Da die Spitze der Drogenelektrode schräg angeschliffen war, hatten die außen

gelegenen Kapillaröffnungen einen größeren Durchmesser als die innen gelegenen und waren 4 - 6 μm weiter von der Spitze der Ableitelektrode entfernt. Es wurde versucht, diese asymmetrische Anordnung der Kapillaröffnungen durch statistisch verteilte Drogenbeschickung auf alle vier Rohre auszugleichen und so einen systematischen Fehler der Messanordnung zu umgehen. Die Voraussetzung, daß gleiche Strommengen auch gleiche Drogenquantitäten freisetzen ist unter den beschriebenen Versuchsbedingungen wahrscheinlich. Die deutlich stärkere inhibitorische Wirkung von Glykokoll gegenüber GABA an 71 % der untersuchten Neurone des N. nervi hypoglossi läßt eine Deutung des Wirkunterschiedes von der synaptischen Struktur dieser Zellen her plausibel erscheinen.

Denkbare Korrelate der stärkeren Glykokollwirkung wären eine höhere Anzahl von glykokollempfindlichen postsynaptischen Arealen oder eine Anordnung der Glykokoll führenden Synapsen an Zellregionen, die für die Steuerung des Erregungszustandes der Zelle von besonderer Wirksamkeit sind, wie sie die somanahen Zellpartien darstellen (vgl. ALTMANN et al. 1972).

Obwohl eine postsynaptische Wirkung von GABA und Glykokoll in den Motoneuronen des Zungenmuskelkerns durch Hyperpolarisation und Leitfähigkeitserhöhung erwiesen ist, muß ihre Funktion als inhibitorische Transmitter durch den Beweis erhärtet werden, daß den von ihnen bewirkten Membranpolarisationen der gleiche ionale Mechanismus zugrunde liegt, wie den entsprechenden inhibitorischen synaptischen Prozessen in dieser Neuronenpopulation. Die komplexe Interneuronen-

struktur des N. nervi Hypoglossi erlaubte jedoch keinen reinen inhibitorischen synaptischen Zuströme, deren Umkehrpotentiale zuverlässig bestimmbar gewesen wären (PORTER 1965, SUMI 1969).

Eine weitere Forderung an einen Transmitter-kandidaten besteht darin, daß seine Wirkung in der gleichen Weise pharmakologisch beeinflussbar sein muß, wie die der entsprechenden synaptischen Prozesse. Obwohl eine reine synaptische inhibitorische Aktion im N. nervi hypoglossi nicht auszulösen war, erscheint der Versuch angebracht, die GABA und Glykokollwirkung unter gleichzeitiger Einwirkung spezifischer Blocker zu untersuchen. In der Literatur wird mit großer Übereinstimmung angenommen, daß Strychnin sowohl die Glykokollwirkung blockieren kann (CURTIS, DUGGAN, JOHNSTON 1971, CURTIS, HÖSLI, JOHNSTON 1968, CURTIS, HÖSLI, JOHNSTON, JOHNSTON 1968), als auch verschiedene postsynaptische inhibitorische Prozesse im Rückenmark beeinflusst (CURTIS 1962, KELLERTH, SZUMSKI, 1966, CURTIS, HÖSLI, JOHNSTON, JOHNSTON 1968, DAVIDOFF, APRISON, WERMAN 1969) (Duggan Lodge Biscoe 1973).

Strychnin iontophoretisch oder intravenös gegeben, war in der Lage die Hemmwirkung von Glykokoll auf das antidrome fokale Potential im N. nervi hypoglossi. unterdrücken. Dieser Umstand spricht für eine Beteiligung von Glykokoll an der postsynaptischen Inhibition der hypoglossus-Motoneurone. Eine Beeinflussung der GABA-Inhibition durch Strychnin konnte auch bei hoher Dosierung nicht festgestellt werden.

Eine Substanz, die mit ähnlicher Spezifität wie Strychnin

auf die Glykokollwirkung auf die GABA-Wirkung anwendbar wäre, ist in der Literatur nicht beschrieben. Über die Wirkung von Picrotoxin auf die natürliche Inhibition und GABA-Wirkungen besteht nur hinsichtlich des Invertebraten-Nervensystems Übereinstimmung. ROBINS und van der KLOOT haben 1958 gezeigt, daß die GABA-Inhibition durch iontophoretische Gabe von Picrotoxin an peripheren Synapsen von Crustaceen blockiert werden kann. 1965 gelang es USHERWOOD und GRUNDFEST, den gleichen Effekt von Picrotoxin an Skelettmuskeln von Insekten nachzuweisen, und schließlich beschrieben A. TAKEUCHI und N. TAKEUCHI 1969, daß die neuromuskuläre Synapse des Krebses (bei der GABA als Transmittersubstanz anerkannt ist) von Picrotoxin blockiert wird. Allerdings beschreiben USHERWOOD und GRUNDFEST zusätzlich Befunde, die sie auf präsynaptische Angriffspunkte beziehen. Die Effekte von Picrotoxin auf die GABA-Hemmung und postsynaptische Inhibition sind beim Warmblüter offenbar weniger klar. ECCLES 1964 und SCHMIDT 1971 postulieren eine selektive Wirkung von Picrotoxin auf Systeme der präsynaptischen Hemmung.

Andererseits haben KELLERTH und SZUMSKY 1966 Motoneurone von Säugern beschrieben, die eine durch Muskeldehnung ausgelöste postsynaptische Hemmung zeigten, welche durch Strychnin nicht zu blockieren war. In allen Fällen, in denen Strychnin nicht wirksam war, konnte die postsynaptische Inhibition durch Picrotoxin unterbunden werden. Dies war der erste Hinweis darauf, daß Picrotoxin auch an der Zellmembran von Säugern inhibitorische postsynaptische

Prozesse blockieren kann. Seit 1969 sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, die eine Blockierung der natürlichen postsynaptischen inhibitorischen Effekte oder der durch GABA induzierten Inhibition durch Picrotoxin in verschiedenen Regionen des ZNS des Säugers beschreiben. Im einzelnen sind zu nennen: GALINDO (1969) an Hinterstrangkernen, ITO, HIGHSTEIN, TSUCHIYA (1970) an Okulomotoriusneuronen, ITO, HIGHSTEIN, FUKUDA (1970) an Vestibulariskernen, OBATA et al. 1970, ten BRUGGENCATE, ENGBERG (1971) and Deiter's Neuronen, OBATA, HIGHSTEIN (1970) an Okulomotorius Neuronen und MORIMOTO et al. (1969) an hypoglossus Motoneuronen. Demnach scheint trotz widersprüchlicher Ergebnisse älterer Arbeiten Picrotoxin als Blocker der GABA-Hemmung auch im Säugetierorganismus eine wachsende Bedeutung zuzukommen. Unsere Messungen am N. nervi hypoglossi bestätigen die Resultate der letztgenannten Autoren. In allen Fällen, in denen mit nicht blockierenden Picrotoxinelektroden gearbeitet wurde (6Elektroden) gelang es regelmäßig die GABA-Wirkung zu vermindern und bei hoher Picrotoxingabe vollständig zu blockieren. Es zeigte sich, daß Picrotoxin die GABA-Wirkung weniger spezifisch hemmt als Strychnin die Wirkung von Glykoll (s. Abb. 9). Es stellt sich die Frage, wieso die GABA-Wirkung so regelmäßig blockiert werden konnte. Sicher ist einer der Gründe für die Reproduzierbarkeit der Resultate die aufwendige Herstellung der Iontophoreseelektroden. Durch Verwendung von Kapillaren, die ein besonders günstiges Verhältnis von Wandstärke und Außendurchmesser hatten das durch eine möglichst symmetrische Anordnung während des Ziehvor-

gangs nur wenig verändert wurde, konnte erreicht werden, daß die Elektroden sehr hohe Ströme passieren ließen. Die elektroosmotische Passage von Picrotoxin dürfte dadurch sehr stark erleichtert worden sein.

Die intrazellulären Registrierungen zeigen, daß GABA bei iontophoretischer Gabe an der postsynaptischen Membran wirkt. Demgemäß muß angenommen werden, daß die Hemmung durch Picrotoxin ebenfalls an der postsynaptischen Membran stattfindet. Über eine eventuelle zusätzliche Wirkung von GABA oder Picrotoxin auf Systeme der präsynaptischen Hemmung können die dargestellten Experimente keine Auskunft geben.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALTMANN, H., BRUGGANCATE, G. ten., SONNHOF, U. :

Differential strength of action of glycine and GABA in hypoglossus nucleus - Pflügers Arch. 331, 90 - 94 (1972).

APRISON, M.G., WERMAN, R. : A combined neurochemical and neurophysiological approach to identification of control nervous system transmitters. Neurosciences Research, Bd. I, hsg. von S. Ehrenpreis, O.C. Solnitzky, pp. 143 - 147 Academic Press New York 1968.

APRISON, M. H., WERMAN, R. : The distribution of glycine in cat spinal cord and roots. Life Sci. 4, 2075 - 2083 (1965).

BRUGGENCATE, G.ten, ENGBERG, I. : Analysis of glycine actions on spinal interneurons by intracellular recording. Brain Res. 11, 446 - 450 (1968).

BRUGGENCATE, G.ten, ENGBERG, E.: Is picrotoxin a blocker of the postsynaptic inhibition induced by GABA (γ -aminobutyric acid) ? Pflügers Arch. 312, 121 (1969).

BRUGGENCATE, G.ten, ENGBERG, I. : Effects of GABA and related amino acids in Deiters' nucleus. Brain Res. 14, 533 - 536 (1969).

BRUGGENCATE, G.ten, ENGBERG, I. : The effect of strychnin on inhibition in Deiters' nucleus induced by GABA and glycine. Brain Res. 14, 536 - 539 (1969).

BRUGGENCATE, G.ten, ENGBERG, I. : Iontophoretic studies in Deiters' nucleus after inhibitory actions of GABA and related amino acids and the interactions of strychnine and picrotoxin. Brain Res. 25, 431 - 448 (1971).

CAJAL, W. R.y: Histologie du système nerveux. Band 1, Instituto Ramon y Cajal Madrid, 1952.

- CRAWFORD, I.M., CURTIS, D.R., VOORHOEVE, P.E. and WILSON, V.J.: Strychnine and cortical inhibition. *Nature (Lond)* 200, 845 - 846 (1963).
- CURTIS, S.R.: The depression of spinal inhibition by electrophoretically administered strychnine. *Int. J. Neuropharmacol.* 1, 239 - 250 (1962).
- CURTIS, D.R.: The pharmacology of central and peripheral inhibition. *Pharmacol. Rev.* 333 - 364 (1963).
- CURTIS, D.R.: Microelectrophoresis in physical techniques in biological research. Vol 5, pp 144-199, ed. by Nastuk. Acad. Press New York 1964.
- CURTIS, D.R., CRAWFORD, I.M.: Central synaptic transmission-microelectrophoretic studies. *Am. Rev. Pharmacol.* 9, 209 - 240 (1969).
- CURTIS, D.R., DUGGAN, A.W., JOHNSTON, A.R.: The specificity of strychnine as a glycine Antagonist in the mammalian spinal cord. *Exp. Brain Res.* 12, 547 - 556 (1971).
- CURTIS, D.R., HÖSLI, L., JOHNSTON, A.R.: Inhibition of spinal neurones by glycine. *Nature (Lond)* 215, 1502-1503 (1967).
- CURTIS, D.R., HÖSLI, L., JOHNSTON, A.R.: A pharmacological study of the depression of spinal neurones by glycine and related amino-acids. *Exp. Brain Res.* 6, 11 - 18 (1968). a.
- CURTIS, S.R., HÖSLI, L., JOHNSTON, A.R., JOHNSTON, J.H.: The hyperpolarization of spinal motoneurones by glycine and related amino acids. *Exp. Brain Res.* 5, 235 - 258 (1968). b.
- CURTIS, D.R., PHILLIS, J.W. and WATKINS, J.G.: The depression of spinal neurones by gamma-amino-n-butyric-acid and beta-alanine. *J. Physiol.* 146, 185-203 (1959).
- DAVIDOFF, R.A., APRISON, M.H., WERMAN, R.: The effect of strychnine on the inhibition of interneurones by glycine and gamma-aminobutyric acid. *Int. J. Neuropharmacol.* 8, 191-194 (1969).

DUGGAN,A.W., LODGE,D., BISCOE,T.I. The inhibition of hypoglossal motoneurons by impulses in the glossopharyngeus nerve of the rat. *Exp. Brain* 17, 261 - 270 (1973).

ECCLES, J.C.: The pysiology of nerve cells. Johns Hopkins Press, Baltimore 1957.

ECCLES J.C.: The physiology of synapses. Springer, Berlin 1964.

EIDE,E.: Input amplifier for intracellular potential and conductance measurement. *Acta. physiol. Scand.* 73, 1A - 2A (1968).

ENGBERG,I., THALLER,A.: On the interaction of picrotoxin with GABA and glycine in the spinal cord. *Brain Res.* 19, 151 - 154 (1970).

GALINDO,A.: GABA-picrotoxin interaction in the mammalian central nervous system. *Brain Res.* 14, 763 - 767 (1969).

GROAT,W.C.de: The effects of glycine, GABA and strychnine on sacral parasympathetic preganglionic neurones. *Brain Res.* 18, 542 - 544 (1970).

GRUNDFEST,H., REUBEN,J.P., RICKLES,W.H.Jr.: Electrophysiology and pharmacology of lobster neuromuscular synapses. *J. gen. Physiol.* 42, 1301 - 1323 (1959).

HÖSLI,L., TEBECIS,A.K.: Action of amino acids and convulsants on bulbar reticular neurones. *Exp.Brain Res.* 2, 111-127 (1970).

HÖSLI,L., TEBECIS,A.K., FILIAS. N.: Effects of glycine, beta-alanine and GABA and their interaction with strychnine on brain stem neurones. *Brain Res.* 16, 293-295 (1969).

HUBBARD,J.J., LLINAS,R. and QUASTEL, D.N.J.:Electrophysiological analysis of synaptic transmission (Monograph of the Physiological Society). London:Arnold (1969).

ITO,U., HIGHSTEIN,S.U., FUKUDA,J.: Cerebellar inhibition of the vestibulo-ocular reflex in rabbits and cat and its blockage by picrotoxin. Brain Res. 17, 524 - 526 (1970).a.

ITO,U., HIGHSTEIN,S.U., TSUCHIYA,T.: The postsynaptic inhibition of rabbit oculomotor neurones by secondary vestibular impulses and its blockage by picrotoxin. Brain Res. 17, 520 - 523 (1970).b.

KELLERTH,J.O., SZUMSKI,A.J.: Two types of stretch activated postsynaptic inhibition in spinal motoneurones as differentiated by strychnine. Acta physiol. Scand. 66, 133 - 145 (1966).a.

KELLERTH,J.O., SZUMSKI,A.J.: Effects of picrotoxin on stretch activated postsynaptic inhibitions in spinal motoneurones. Acta physiol. Scand. 66, 146 - 156 (1966).b.

KELLY,J.S., KRNJJEVIĆ, K.: Effects of γ -aminobutyric acid and glycine on cortical neurones. Nature (Lond) 219, 1380-1381 (1968).

KRNJEVIĆ,K., PHILLIS,J.W.: Iontophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex. J. Physiol. (Lond) 165, 274 - 340 (1963).

KRNJEVIĆ,K., RANDIĆ,M., STRAUGHAN,D.W.: Pharmacology of cortical inhibition. J. Physiol. (Lond) 184, 78 - 105 (1966).

KRNJEVIĆ,K., RANDIĆ,M., STRAUGHAN,D.W.: Pharmacology of cortical neurones. Exp. Brain Res., 3, 320 - 336 (1967).

KRNJEVIĆ, K., SCHWARTZ,S.: The action of γ -aminobutyric acid on cortical neurones. Exp. Brain Res. 3, 320 - 336 (1967).

LARSON,M.D.: An analysis of the action of strychnine on the recurrent IPSP and amino acid induced inhibitions in the cat spinal cord. Brain Res. 15, 185 - 200 (1969).

LLINAS R., BAKER, R.: A chloride-dependent inhibitory post-synaptic potential in cat trochlear motoneurons. J. Neurophysiol. 35, 4, 484 - 491 (1972).

LORENTE de NÓ, R.: Action potentials of the motoneurons of the hypoglossus nucleus. J. cell. comp. Physiol. 19, 207-287 (1947).

LUX, H.D.: Ammonium and chloride extrusion: Hyperpolarizing synaptic inhibition in spinal motoneurons. Science 173, 555 - 557 (1971).

LUX, H.D., LORACHER, C., NEHER, E.: Action of ammonium on post-synaptic inhibition of cat spinal motoneurons. Exp. Brain Res. 11, 431 - 447 (1970).

MORIMOTO, T., TAKATA, U., KAWAMURA, Y.: Effect of lingual nerve stimulation on hypoglossal motoneurons. Exp. Neurol., 22, 174 - 190 (1969).

OBATA, K.H., HIGHSTEIN, S.U.: Blocking by picrotoxin of both vestibular and GABA action on rabbit oculomotor neurons. Brain Res. 18, 538-541 (1970).

OBATA, K.H., IOTO, M., OCHI, R., SATO, N.: Pharmacological properties of the postsynaptic inhibition by Purkinje cell axons and the action of γ -aminobutyric acid on Deiters' Neurons. Exp. Brain Res. 4, 34 - 57 (1967).

PORTER, R.: Synaptic potentials in hypoglossal motoneurons. J. Physiol. (Lond) 180, 209 - 224 (1965).

PRECHT, W., YOSHIDA, M.: Blockage of caudate evoked inhibition of neurons in the substantia nigra by picrotoxin. Brain Res. 32, 229 - 233 (1971).

ROBBINS, J., KLOOT, W.G. van der: The effect of picrotoxin on peripheral inhibition in the crayfish. J. Physiol. (Lond) 143, 541 - 552 (1958).

SCHMIDT, R.F.: Pharmacological studies on the primary afferent depolarisation of the toad's spinal cord. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 277, 325 - 346 (1963).

SCHMIDT, R.F.: Presynaptic inhibition in the vertebrate central nervous system. *Ergeb. Physiol.* 63, 20 - 101 (1971).

SUMI, T.: Synaptic potentials of hypoglossal motoneurons and their relation to reflex deglutition. *Jap. J. Physiol.* 19, 68-75 (1969).

TAKEUCHI, A., TAKEUCHI, N.: A study of the action of picrotoxin on the inhibitory neuromuscular junction of the crayfish. *J. Physiol. (Lond)* 205, 377 - 391 (1969).

USHERWOOD, P.N.R., GRUNDFEST, H.: Peripheral inhibition of skeletal muscle of insects. *J. Neurophysiol.* 28, 497-581 (1965).

WERNER, R., DAVIDOFF, R.A., APRISON, M.H.: Inhibition of motoneurons by iontophoresis of glycine. *Nature (Lond)* 214, 681 - 683 (1967).

WERNER, R., DAVIDOFF, R.A., APRISON, M.H.: Inhibitory action of glycine on spinal neurons in the cat. *Neurophysiol.* 31, 81 - 95 (1968).

SACHWORTVERZEICHNIS

- Antidromes AP: Durch elektrische Reizung des motorischen Nerven ausgelöstes Aktionspotential, das sich entgegen der natürlichen Leitungsrichtung fortpflanzt.
- Depolarisation: Verminderung des Ruhemembranpotentials einer Zelle.
- EPSP: Erregendes postsynaptisches Potential.
- fokales Potential: Potentialschwankung, die in der Umgebung einer erregten Struktur in einem Volumenleiter registriert werden kann.
- Elektroosmose: Wanderung kolloidal gelöster Teilchen in einem elektrischen Feld.
- Hyperpolarisation: Erhöhung des Membranpotentials einer Zelle über das Ruhemembranpotential hinaus.
- Iontophorese: (Mikroelektrophorese) Bewegung von gelösten Teilchen durch ein angelegtes elektrisches Feld.
- IPSP: Hemmendes postsynaptisches Potential.
- IS-spike: Initialsegmentspike: Erste Phase der Aktionspotentialausbreitung in einer Nervenzelle, ausgehend vom Axonhügel.
- Kathodenfolger: Messverstärker zur Anpassung an hochohmige Messobjekte.
- Membranpotential: Potentialdifferenz zwischen dem Zellinneren und dem Extrazellulärraum, die auf Grund der selektiven Permeabilität und der unterschiedlichen Ionenkonzentrationen zu beiden Seiten der Membran entsteht. Normalwert 70 - 90 mV.
- Membranwiderstand: Ohmscher Widerstand der Zellmembran, messbar an dem an der Zellmembran auftretenden Spannungsabfall bei einer durch die Mikroelektrode erzwungenen elektronischen Potentialschwankung.

Transportzahl : $n = \frac{zF(M_0 + M_1)}{i}$

z = Wertigkeit

i = Strom

M_1 = ionaler Fluß

M_0 = elektroosmotischer Fluß

F = Faraday'sche Konstante.

Lebenslauf.

Am 20. 10. 1937 wurde ich in Leobschütz geboren.

1943 trat ich in die Volksschule ein. Durch einen fast dreijährigen Aufenthalt in einer Lungenheilanstalt war ich erst 1951 in der Lage die Oberrealschule in Erding zu besuchen. 1960 bestand ich die Reifeprüfung.

Im November 1960 begann ich das Medizinstudium an der Universität München. Nach dem Vorphysikum, das ich 1963 ablegte unterbrach ich das Medizinstudium und studierte sechs Semester Physik. 1966 nahm ich das Medizinstudium wieder auf und legte das Staatsexamen 1969 ab.

Seit Oktober 1969 arbeite ich am Physiologischen Institut der Universität München in der Abteilung von Herrn Prof. ten Bruggencate.

